洋菇菌種接種技術之研究

第一報、液隔式無菌箱之設計與使用

宋 細 福　　胡 開 仁

一、前　　言

在微生物之研究上，爲使研究主體之純正與不受其他微生物的干擾，前人已設計了許多類型的無菌室與無菌箱以供分離培養研究之用(2)(3)(4)。本省洋菇菌種業者在培養菌種時都採用了無菌室與無菌箱等之設備，惟因培製菌種之數量太多，在操作上稍不留意，雜菌的發生亦甚爲嚴重，同時接種時期又正值盛夏，無菌室中人衆室小，再加上酒精燈的燃燒，室溫極高，使得接種人員備受汗熱之苦，影響身心健康至大，筆者等有鑑於此，乃以最經濟，有效快速及工作人員可在空氣流通涼爽之情況下工作的原則，設計了一種適合於本省菌種業者之"液隔式"無菌箱，專作培養洋菇菌種之用。

二、液隔式無菌箱之構造與操作時所需之器具

(一) 構造：本無菌箱爲長方形，長 270cm，寬 65cm，高 126cm，分上下兩部份，上部是用 4mm 厚之壓克力板作成的防菌蓋，其寬度爲 60cm，長 180cm，高 45cm，在左右兩邊各開四個洞孔，各孔直徑爲 15cm，以便工作者之手伸入箱內工作，並裝上橡皮手套以防空中雜菌進入箱內，下部是用水泥、磚、鋼筋等材料，作成的工作臺一個及出入口防菌槽與隔菌板各一組，防菌槽中灌注消毒液，此液高達隔菌板 3cm，使菌種瓶能够送入無菌箱而空氣與雜菌無法進入即可。本箱內上下兩部份連接處以水泥磨石材料作成一條長 185cm，寬 3cm，深 3cm 之防菌溝，溝中亦灌注消毒液，使防菌蓋消毒液得以密接其上，不致漏氣與滲入雜菌（詳見附圖一、二）

(二) 操作時所需之器具：

A. 鐵框：寬 26cm，高 18cm，長 34cm，框上設防浮板，框下帶有 4 個滑輪（如附圖三），本框係作爲運送菌種瓶出入接種之用。

B. 橡膠蓋：直徑 3.9cm，高4.5cm，蓋之頂部需挿10個小氣孔，當殺菌、瓶內氣壓昇高時可以自動排氣，而後氣壓恢復平衡時，又自動封密(如附圖四)，該橡皮蓋可耐高溫 160 °C以上，且經多次不致損壞，本蓋係自殺菌冷却至接種期間作防菌防水之用。

C. 消毒殺菌用器具：可用玻璃管雙連球式或其他小型噴霧器均可用作箱內消毒殺菌。

D. 接種器：與一般接種法一樣，可用接種匙或鑷子等，惟使用前必需裝入玻璃管中，塞妥橡膠栓經過週密之殺菌備用。

三、使　用　方　法

(一) 消毒與準備：本式無菌箱在使用前必需連同工作室洗刷乾淨，然後按一般無菌室消毒方法消毒之，同時在本式無菌箱之出入口防菌槽及防菌溝中各別注滿含有0.1～0.2% Antiseptol Solution 消毒液再蓋上壓克力防菌蓋，然後以防菌槽入口遞入殺菌器具，並噴以 0.5% Antiseptol Solution 消毒備用。

(二) 橡膠蓋及鐵框之使用：製作洋菇菌種時按一般的方法將培養材料裝瓶並塞妥棉栓即蓋上橡膠蓋（如圖四），再依照一般的方法殺菌，冷却，然後裝入本設計之鐵框，爲延長防菌槽中消毒液之效果，可將裝入鐵框之菌種瓶用清水冲洗乾淨並先行消毒一次，再放入防菌槽入口處，經過消毒

液送入無菌箱接種臺，接種後將菌種再經過出口防水槽運出，送往培養室前，將橡膠蓋及鐵框除下，再作循環應用。

(三) 接種操作方法：本式無菌箱需四人分工合作操作之，分A、B、C、D四組操作孔，在A組操作者負責除瓶蓋，B組操作者負責接種，C、D兩組操作者負責蓋瓶蓋（如圖一）工作時由專人將鐵框裝妥之菌種瓶自入口水槽輕輕放下，藉入口水槽之斜坡與鐵框下之滑輪在消毒液中徐徐滾到工作臺邊，此時在A組操作者，伸出右手，B組操作者伸出左手，將鐵框提起，置於工作臺上，A組操作者即以右手除去菌種瓶之橡膠蓋，左手撥取棉栓，同時B組操作者即以接種器具將原種瓶之原種接於菌種瓶內，A組操作者再將棉栓與橡膠蓋簡單的蓋上，如此將鐵框內之菌種瓶一一接完後推進送至C、D兩組操作者，C、D兩組即將棉栓與橡膠蓋整妥蓋密，然後推送至出口水槽之斜坡，經消毒液徐徐的滾到出口水槽邊，再由專人提取送往培養室。

四、使 用 結 果

本式無菌箱設計完成後，首先在新竹香山協和菌種場正式試用，其接種速度每小時最快可達1200瓶/臺，最慢亦可以接到600瓶/臺，平常一天的接種量爲5000～6000瓶/臺/8小時。該場將接種完成之洋菇菌種分爲六組，置於25°C冷氣室定溫培養，於菌種出場前，各檢查三次，以淘汰雜菌及其他因素損失者，玆將檢查結果列表如下：

表一、洋菇菌種接種成績調查表

組別＼項目	接種瓶數	淘汰瓶數				成功瓶數	%
		雜菌數	%	破瓶及其他數	%		
第一組	16,160	1,159	7.17	641	3.97	14,360	88.86
第二組	25,280	758	3.00	802	3.17	23,720	93.83
第三組	31,543	956	3.03	601	1.91	29,986	95.06
第四組	35,184	1,825	5.18	1,147	3.26	32,212	91.55
第五組	23,400	1,545	6.60	155	0.66	21,700	92.74
第六組	35,600	1,424	4.00	1,028	2.89	33,148	93.11
合計	167,167	7,667	28.98	4,374	15.86	155,126	
平均			4.83		2.64		92.53

由上表得知，用液隔式無菌箱接種的結果，發生雜菌率最高者爲7.17％，最低者只有3％，平均4.83％。其成功率除因破瓶或其他因素而損失者外，尙可高達95.17％。

五、討 論

微生物研究所使用之無菌室一般均以玻璃或不透水材料建造，以隔離室外之空氣，並在人員出入口處作雙層門，以緩衝人員出入時空氣之流動[3]，該室在使用前並作週密的消毒，以達無菌之目的，這種無菌室的設計因室內空氣無法流通，工作人員工作稍久，即頗感不適。故今已有用空氣濾淨機將濾過無菌的空氣打進室內[2]，以維持室內之無菌及工作人員的舒適，但這種設備如應用於洋菇菌種大規模之接種上，所需費用非本省一般小菌種場所易於負擔，故目前使用者還很少。在本省洋菇菌種場接種時，正值盛夏，使用一般無菌室，室內溫度本已很高，再加上工作人員及酒精燈的溫度，不但使工作人員感受痛苦，且也增加了空氣經門隙的對流，無形中就減低了無菌室的效能，故近年本省洋菇菌種場接種的成功率，據調查結果，一般能達80％即已被感到滿意，而90％以上者，實極爲少數，同時也無法獲得保證年年有此把握，但最低者，只有60％之成功率，這對於菌種的成本無形中提高了很多。

本式無菌箱之設計，是以壓克力及水泥或不透水材料而構成，並利用0.1～0.2%之 Antiseptol Solution 消毒液作爲隔離箱外空氣與雜菌之特殊裝置，欲使接種之菌種瓶可以自入口防菌槽之消毒液內，經隔菌板進入箱內之接種小室（如圖一）而空氣與雜菌却無法混入，待接種手續完成後，又可藉出口防菌槽之消毒液，經隔菌板送出無菌箱，而得以保持箱內之無菌狀態。同時本式無菌箱工作人員只需雙手經橡皮手套伸入箱內操作，故工作人員可享流動之空氣或電扇，冷氣等，亦不致影響接種工作，爲本式無菌箱之優點。

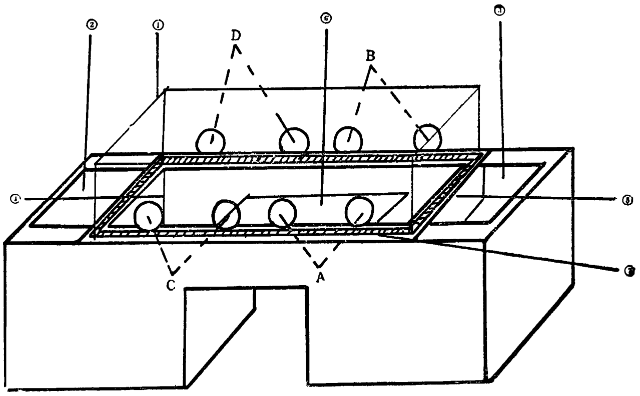
惟本式無菌箱使用時，菌種瓶之橡膠蓋，必需妥爲蓋好，如將棉栓之棉花未能全部蓋進蓋內，則會使棉栓吸水，而致誘發雜菌，此爲本試驗接種167,167瓶洋菇菌種平均還有4.83%雜菌之主要原因，惟較一般無菌室在操作及防菌方面似已有所改善，且所需經費極少，故洋菇菌種場或微生物研究需大量接種者，本式無菌箱可作爲利用之參考。

六、摘　　要

本試驗利用水泥及壓克力作成長 270cm，寬 65cm，高 126cm之無菌箱，箱內以 0.1～0.2 % 的 Antiseptol Solution 作爲隔菌液，以隔離箱外空氣與雜菌之侵入，該無菌箱一天可以接洋菇菌種 5000～6000 瓶/臺/8小時，接種時，菌種瓶可以從隔菌液中自由出入完成接種手續，而不致將箱外之空氣與雜菌帶進無菌箱內，故可保持箱內相當的潔淨與良好的接種效果，同時該接種箱造價低廉，且工作人員可以不再受到一般無菌室悶熱之苦，亦爲其優點之一。

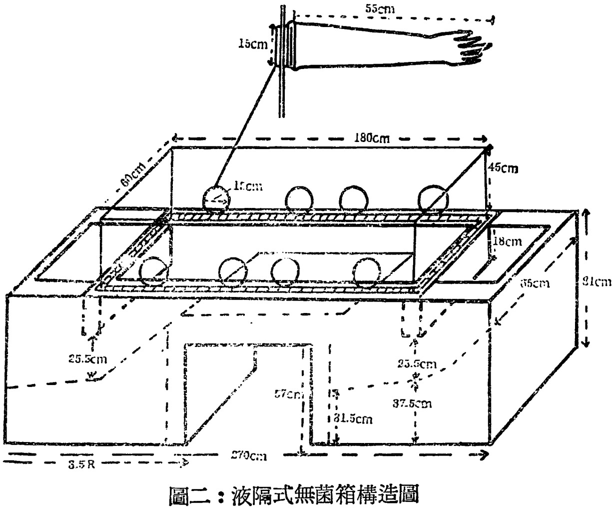
附註：

① 防菌蓋
② 出口防菌槽
③ 入口防菌槽
④ 出口隔菌板
⑤ 入口隔菌板
⑥ 工作臺
⑦ 防菌溝

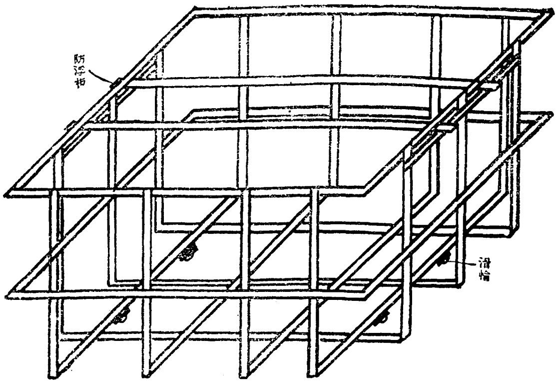


A　除蓋者操作孔
B　接種者操作孔
C　整蓋者操作孔
D　整蓋者操作孔

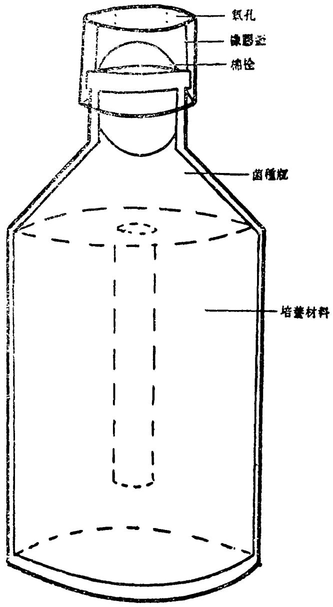
圖一：液隔式無菌箱外型圖



圖二：液隔式無菌箱構造圖



圖三：裝運菌種之鐵筐



圖四：橡膠蓋，及蓋瓶方法

七、參　考　文　獻

1. Imre Heltay And Uzonyi Adele Latkoczky, Investigations to Elucidate the "Degeneration" problem of the Cultivated Mushroom (*Psalliota bispora* (Lge) Moll.-Schaff.) Varieties. Mushroom Science IV 52-85 1962.
2. G. Raymond Rettew, and Forrest G. Thompson, Mushroom spawn production Manual of Mushroom culture 251-260 1948.
3. 瀧元清透：微生物及植物病理學研究法　p2—3，1930
4. 廣江勇：茸類栽培法　p334—339，1960
5. 河村貞之助：植物病理學實驗指針，1960

THE INOCULATION TECHINIQUE FOR MUSHROOM SPAWN TRANSFER

part 1. The Design of Inoculation Chamber in Liquid System for Mushroom Spawn Transfer and Its Practice.

By

S. F. SONG. K. J. HU.

SUMMARY

A convenient inoculation chamber was developed for mushroom spawn producers. It occupies small space than conventional inoculating room does. Moreover the cost for the construction of the inoculation chamber is cheaper. Another advantage of this inoculation chamber is that the operator can work comfortably durins the operation process. A detail operation process of the use of the inoculation chamber was discussed.